

BIOENSAYO CON SEMILLAS DE *Senecio praecox* PARA EVALUAR FITOTOXICIDAD DE CADMIO (Cd^{2+})

BIOASSAY WITH *Senecio praecox* SEEDS TO EVALUATE CADMIUM (Cd^{2+}) PHYTOTOXICITY

Delia Angélica Narváez-Barragán¹, Angeluz Olvera-Velona^{2*} y Arturo Colín-Cruz³

¹Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
Av. Universidad 1001. Col. Chamilpa. Cuernavaca, Morelos. CP 62209.

²Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
Av. Universidad 1001. Col. Chamilpa. Cuernavaca, Morelos. CP 62209. Correo-e: olvera@uaem.mx

³Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México. Paseo Colón y Tollocan.
Col. Centro s/n, Toluca Edo. de México. CP 50000.

*Autor responsable.

RESUMEN

La presencia de cadmio (Cd^{2+}) en el suelo, es el resultado de procesos geológicos, edafogenéticos y antropogénicos. La contaminación por este metal ha aumentado con el desarrollo industrial y minero afectando de forma progresiva a los diferentes ecosistemas. El Cd^{2+} es un metal altamente tóxico ya que no tiene función biológica. La toxicidad del cadmio es ampliamente conocida por la destrucción de sitios enzimáticos activos y por la inhibición del crecimiento y desarrollo de plantas. *Senecio praecox* conocido como “palo loco”, es un arbusto caducifolio, que crece sobre sustratos rocosos, en medicina tradicional,

se le atribuyen propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y antirreumáticas. En este trabajo, se realizó un bioensayo para evaluar la fitotoxicidad del Cd^{2+} sobre la germinación y el desarrollo de la radícula de *Senecio praecox*. El bioensayo demostró que *Senecio praecox* presenta una alta sensibilidad al Cd^{2+} , ya que en presencia de este metal, se ve afectado su porcentaje de germinación, así como el desarrollo de la raíz y la inhibición de pelos radicales. El bioensayo de germinación con semillas de *Senecio praecox* resultó ser sensible y viable para evaluar fitotoxicidad por metales pesados específicamente cadmio (Cd^{2+}).

Palabras clave: Fitotoxicidad, Cd^{2+} , *Senecio praecox*.

ABSTRACT

The presence of cadmium (Cd^{2+}) in the ground, is the result of geological, anthropogenic and edafogenetic processes. The lead pollution has increased with the development of industrial and mining progressively affecting different ecosystems. The Cd^{2+} is a highly toxic metal and has no biological function. The toxicity of cadmium is widely known for the destruction of enzymatic active sites, and inhibiting the growth and development of plants. *Senecio praecox* known as "bat crazy", is a deciduous shrub that grows on rocky substrates, in traditional medicine, is credited like antimicrobial, anti-inflammatory and antirheumatic. In this work, was performed a bioassay to assess the phytotoxicity of Cd^{2+} on germination and development of the radicle of *Senecio praecox*. The bioassay showed that *Senecio praecox* has a high sensitivity to Cd^{2+} , since in the presence of this metal, the percentage of germination, root development and inhibition of root hairs is affected. The seed germination bioassay of *Senecio praecox* proved sensible and viable to assess heavy metal phytotoxicity specifically cadmium (Cd^{2+}).

Keywords: phytotoxicity, Cd^{2+} , *Senecio praecox*

INTRODUCCIÓN

El cadmio (Cd^{2+}) es un metal altamente tóxico contaminante de los suelos, está presente en concentraciones bajas, sin embargo, la contaminación por este metal ha aumentado como consecuencia del incremento de la actividad industrial, afectando de forma progresiva a los diferentes ecosistemas (Pinto *et al.*, 2004). Las principales fuentes antropogénicas de Cd^{2+} son: el uso de fertilizantes fosfatados; lodos procedentes de plantas tratadoras de aguas residuales que son utilizados en cultivos agrícolas; la actividad minera es otra fuente de

contaminación, ya que el Cd^{2+} se extrae como subproducto de Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} y otros metales; las incineradoras municipales; y emisiones industriales procedentes de la producción de pigmentos para cristales, anticorrosivos, baterías de Ni/Cd, e insecticidas (McLaughlin *et al.*, 1999).

La toxicidad del Cd^{2+} es debida a la alta reactividad con grupos sulfhidrido (Polle *et al.*, 2004), inhibe el crecimiento de la raíz y tallo de las plantas, lo que conlleva a una reducción de la biomasa (Clemens, 2006). Así también Inhibe directamente la síntesis de clorofila y la fotosíntesis. Se ha demostrado que el Cd^{2+} interfiere con la absorción, transporte y uso de muchos elementos esenciales (Ca, Mg, P y K) y el agua por las plantas, causando una reducción en la absorción de nutrientes, afectando la homeostasis celular. Se ha reportado que interacciona con el balance hídrico (Costa *et al.*, 1994) afectando la permeabilidad de la membrana plasmática, causando una reducción en el contenido de agua. El Cd^{2+} induce la generación de especies reactivas de oxígenos (ROS), y por consiguiente desencadena un estrés oxidativo en las plantas afectando de esta manera su rendimiento y productividad (John *et al.*, 2009).

La alta incidencia de suelos contaminados por Cd^{2+} y su uso en cultivos agrícolas ha provocado la entrada excesiva de este elemento en la cadena alimenticia, lo que convierte al Cd^{2+} en un elemento potencialmente peligroso para la salud tanto animal como humana (Sanita di Toppi *et al.*, 1999). Para evaluar efectos tóxicos por metales es necesario el desarrollo de herramientas de monitoreo, entre las más usadas esta la aplicación de bioensayos de toxicidad con plantas, siendo los ensayos de fitotoxicidad con semillas germinadas, muy versátiles y útiles para evaluar la toxicidad de aguas, sedimentos y muestras de suelo (Castillo, 2004).

Las plantas presentan diferente sensibilidad frente a los distintos contaminantes debido a sus diferentes características: biológicas, fisiológicas, morfológicas, estructurales, su hábitat y el rol ecológico. Además de la variación asociada a las diferentes vías de exposición a los tóxicos (contacto directo, a través del agua o suelo) y estado ontogenético durante la exposición (semilla, plántula, planta) (Mohan *et al.*, 1997).

Senecio praecox o “palo loco” es un arbusto fanerofito perteneciente a la familia Compositae. Este arbusto presenta una distribución restringida para México, en los estados de Jalisco, Oaxaca, Puebla, Morelos, Estado de México, Zacatecas y San Luis Potosí (Figura 1). Su hábitat son matorrales xerófilos de lugares rocosos. Es una planta hermafrodita y caducifolia, tiene

hojas alternas y flores amarillas en racimos (Figura 2) que aparecen durante la época más seca del año, ya que florece de febrero a junio; fructifica de junio a enero y pierde sus hojas de mayo a septiembre. Este arbusto tiene una forma candelabriforme, y alcanza una altura de hasta 3 metros, presenta corteza delgada y grisácea, tallo grueso y ramas carnosas y suculentas, así como tallos huecos adaptados para almacenar grandes cantidades de agua. Su sistema radicular es corto, lo que le permite afianzarse en sitios de escaso suelo y de superficie irregular. Sus semillas son pequeñas y son dispersadas por el viento (Carrillo *et al.*, 1995). Este arbusto es usado en la medicina tradicional, sus hojas se usan en té, para problemas de la piel, reumatismo y algunas heridas externas (Castillo, 2007).



Figura 1. Distribución de *Senecio praecox* (Jalisco, Oaxaca, Puebla, Morelos, Estado de México, Zacatecas y San Luis Potosí).



Figura 2. *Senecio praecox*. Presenta forma candelabriforme, alcanza una altura hasta de 3 metros, corteza grisácea, hojas alternas, flores amarillas dispuestas en racimos (Tomado de Carrillo *et al.*, 1995).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizaron semillas de *Senecio praecox*, colectadas en agosto del 2001, en la localidad de Sierra de Montenegro, Jiutepec, Morelos, las cuales se mantuvieron almacenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. La viabilidad de las semilla se comprobó mediante una evaluación por pruebas de corte, tetrazolio y germinación (Murashige *et al.*, 1962), las cuales presentaron una viabilidad del 95 %. Las semillas fueron esterilizadas con etanol al 70 % y

posteriormente con cloro a 1%, antes de someterlas al bioensayo.

Bioensayo

Para probar la fitotoxicidad del Cd^{2+} , se utilizó CdCl_2 . Se probaron cinco concentraciones diferentes de CdCl_2 : 0.0 mM (control), 0.125 mM, 0.250 mM, 0.500 mM, 1.000 mM. Se utilizaron 10 semillas de *Senecio praecox* por cada concentración, con 5 réplicas. Los bioensayos fueron realizados en cajas petrí con medio de cultivo estándar (MS) con las diferentes concentraciones de CdCl_2 , donde se sembraron 10 semillas de *Senecio praecox*, posteriormente las cajas petri fueron mantenidas a una temperatura de $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, durante cinco días. Al término de los cinco días se contaron las semillas que habían germinado y con una regla se midió cuidadosamente la longitud de la radícula en cada una de las plántulas correspondiente a cada concentración del CdCl_2 .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del Cd^{2+} sobre la germinación de semillas de *Senecio praecox*

En la Figura 3 se muestran los porcentajes de germinación de semillas de *Senecio praecox* expuestas a distintas concentraciones de CdCl_2 , durante el periodo de germinación (5 días). Se observa que la germinación de las semillas de *Senecio praecox*, inició a partir del segundo día. Así también se observa una correlación entre el incremento de la concentración molar de CdCl_2 y la disminución del porcentaje de germinación.

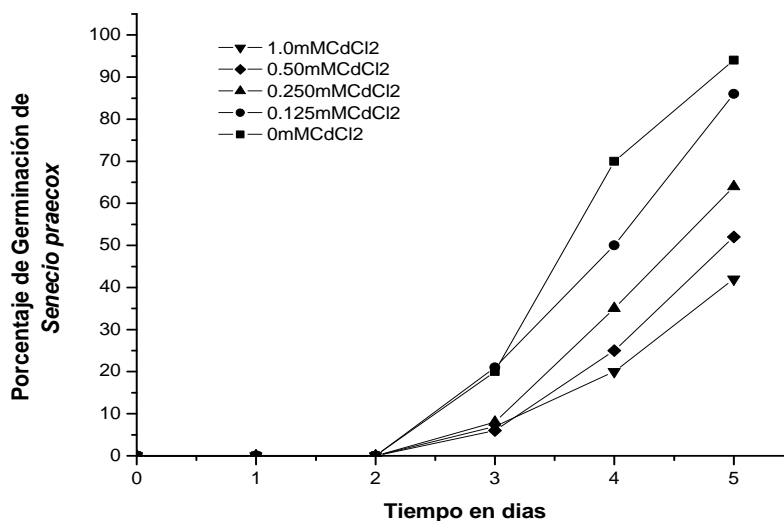


Figura 3. Porcentaje de germinación de semillas de *Senecio praecox* expuestas a distintas concentraciones de CdCl₂.

A manera de resumen, en el Cuadro 1 se muestran los porcentajes de germinación de semillas de *Senecio praecox* expuestas a las diferentes concentraciones de CdCl₂ al concluir el periodo de germinación (5 días). En el control, es decir, sin CdCl₂, se obtuvo un 94 % de germinación. Estos resultados muestran que las semillas de *Senecio praecox* colectadas en el 2001 y conservadas a -20 °C conservan su viabilidad (2001-2012), y son aptas para usarse en bioensayos de toxicidad. Se observa que a medida que se incrementa la concentración disminuye el porcentaje de germinación. A partir de la concentración 0.250 mM de CdCl₂ el efecto en la germinación es muy marcado, estos resultados son similares a lo reportado por Sobrero (2010), utilizando semillas de *Lactuca Sativa*. Algunas plantas como *Lactuca sativa*, *Cucumis sativus* y *Panicum miliaceum*, se han usado ampliamente en este tipo de ensayos, que al ser expuestas a compuestos orgánicos y metales pesados, observando una mayor sensibilidad de *L.*

sativa para metales, mientras que *P. Miliaceum* es más sensible a la toxicidad por compuestos orgánicos. También se ha observado mayor sensibilidad de *Allium cepa* respecto de *Lepidium sativum* al evaluar el efecto del Cu (II), Zn (II) y Pb (II) en la elongación de la raíz (Deng et al., 2004; Sobrero, 2010).

Con relación al efecto del Cd²⁺ en el desarrollo de la raíz, la Figura 4 muestra las fotografías de los efectos del CdCl₂ en la elongación de la radícula y cantidad de pelos radiculares (círculos en la Figura 4) en *Senecio praecox*. La figura 4 a) muestra la germinación, el desarrollo y crecimiento de la radícula del control (0.00 mM de CdCl₂), se observa claramente el buen desarrollo y la abundancia de pelos radiculares. A la concentración de 0.125 mM de CdCl₂ no se ve afectada la elongación de la raíz, pero empiezan los pelos radiculares a disminuir respecto al control (Figura 4 a y b).

En la concentración de 0.250 mM de CdCl₂ la elongación de la raíz no se ve

afectada, pero si sobre la cantidad de pelos radiculares (Figura 4 a y c). En la concentración de 0.500 mM CdCl₂ tanto la elongación como la presencia de pelos radiculares se ve disminuida respecto al control (Figura 4 a y d). Para el caso de la concentración de 1 mM se observan los dos efectos muy marcados; a) La elongación de la raíz disminuye y b) La presencia de pelos radiculares es nula; esto concuerda con lo reportado por Polle *et al.* (2004), ya que este metal inhibe el crecimiento de la raíz de las plantas, y también concuerda con lo observado para otras especies como *Lepidium sativum*, *Leersia hexandra*, *Juncus effus* y *Equisetum ramosist* (Deng *et al.*, 2004).

Cuadro 1. Porcentaje de germinación de semillas de *Senecio praecox* expuestas a distintas concentraciones de CdCl₂.

Concentración (mM de CdCl ₂)	Porcentaje de germinación	Desviación estándar
0.000	94	2.36
0.125	86	3.76
0.250	64	0.64
0.500	52	3.44
1.000	42	2.04

Estos cambios en la morfología de la radícula están asociados directamente a las altas concentraciones de Cd²⁺, ya que este metal interfiere con la absorción de algunos

nutrientes importantes para el desarrollo de las plantas (Jin *et al.*, 2009).

CONCLUSIONES

Senecio praecox comúnmente conocido como “Palo loco”, es un arbusto que presenta una alta sensibilidad al Cd²⁺, ya que en presencia de este metal pesado se ve afectado su porcentaje de germinación, así como el desarrollo de la raíz, disminuyendo su elongación e inhibiendo la aparición de pelos radiculares. El bioensayo de germinación de semillas de *Senecio praecox* es sensible y viable para evaluar fitotoxicidad por metales pesados específicamente el Cd²⁺, ya que afecta la germinación de la semilla e interfiere alterando el desarrollo normal de la planta. Si bien *Senecio praecox* no es una especie reportada como sensible a los efectos tóxicos del Cd²⁺, la información generada a partir de esta prueba de toxicidad, proporciona datos acerca de los posibles efectos de Cd²⁺ en las comunidades vegetales.

AGRADECIMIENTOS

Al M en C. Alejandro Flores Morales. Profesor de la Facultad de Ciencias Biológicas, por la aportación de las semillas de *Senecio praecox*.

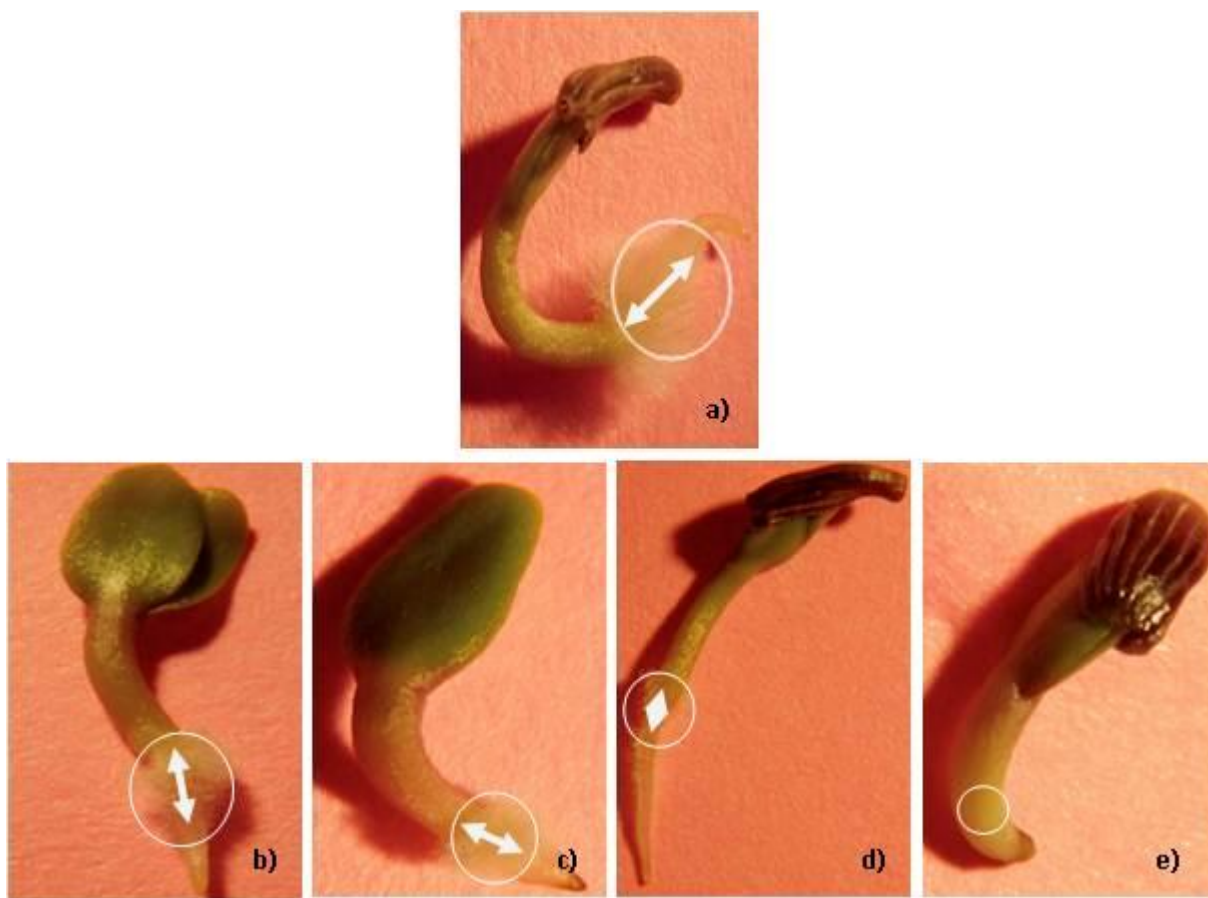


Figura 4. Efectos en el crecimiento de la radícula de plántulas de *Senecio praecox* expuesta a diferentes concentraciones de CdCl_2 a) 0 mM, b) 0.125 mM, c) 0.150 mM, d) 0.250 mM, e) 0.500 mM, f) 1 mM.

LITERATURA CITADA

- Alloway BJ, Steinnes E. 1999. Anthropogenic additions of cadmium to soils. En *Cadmium in Soils and Plants* (eds. McLaughlin, M.J. y Singh, B.R.), Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp. 97-123.
- Brady NC, Weil R. R. 2002. *Nature and properties of soils*. 13^o edition. Prentice Hall.
- Carrillo TC, Rzedowski J. 1995. *El pedregal de San Ángel*. México: UNAM. Pp. 56.
- Castillo MG. 2004. *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas*. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México: IMTA.
- Castillo S. 2007. *La reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel: aspectos florísticos y ecológicos*. México: UNAM/ CIC/ REPSA, pag. 101.
- Clemens S. 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* 88: 1707-1719.
- Costa G, Morel JL. 1994. Water relations, gas exchange and amino acid content in Cd-treated lettuce. *Plant Physiol. Biochemistry* 32: 561-570.

- Deng H, Ye ZH, Wong MH. 2004. Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environmental Pollution* 132: 29-40.
- Fodor A, Szabó-Nagy A, Erdei L. 1995. The effects of cadmium on the fluidity and H⁺-ATPase activity of plasma membrane from sunflower and wheat roots. *Journal of Plant Physiology* 14: 787-792.
- Jin CW, Du ST, Chen WW, Li GX, Zhang YS, Zheng SJ. 2009. Elevated carbon dioxide improves plant iron nutrition through enhancing the iron-deficiency-induced responses under iron-limited conditions in tomato. *Plant Physiol.* 150(1):272–280.
- John R, Ahmad P, Gadgil K, Sharma S. 2009. Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by Brassica juncea L. *International Journal of Plant Production* 3: 3.
- McLaughlin MJ, Singh BR. 1999. Cadmium in soil and plants: a global perspective. In: 'Cadmium in soils and plants'. (Eds MJ McLaughlin, BR Singh). pp. 13-21. (The Netherlands: Kluwer Academic Publishing).
- Meagher RB. 2000. Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *Current Opinion in Plant Biology* 3: 153-162.
- Mohan BS & Hosetti B.B. 1997. Potencial phytotoxicity of lead and cadmium to *Lemna minor* grown in sewage stabilization ponds. *Environmental Pollution* 98: 233-238.
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology*, 15: 473-497.
- Pinto A. P, Mota A. M, De Varennes A, Pinto F. C. 2004. Influence of organic matter on the uptake of cadmium, zinc, copper and iron by sorghum plants. *Science of the Total Environment* 326: 239-274.
- Polle A, Schützendübel A. 2004. Biomedical and life sciences plant responses to abiotic stress. *Topics in Current Genetics* 4: 187-215.
- Sanita di Toppi L, Gabrielli R. 1999. Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany* 41: 105–130.
- Singh GS, Tuteja N. 2011. Cadmium stress tolerance in crop plants: Probing the role of sulfur. *Landes Bioscience* 6: 215-222.
- Sobrero MC. 2010. Estudio de la fitotoxicidad de metales pesados y del herbicida glifosato en ambientes acuáticos. Bioensayos con plantas vasculares como organismos diagnóstico. (Tesis de doctorado – Universidad Nacional de la Plata) [En línea]. Disponible en: <http://postgrado.fcnym.unlp.edu.ar/postgrado/verTesis.php?id=637>.
- Wade, M.J., Davis, B.K., Carlisle, J.S., Klein, A.K., Valoppi, L.M. 1993. Environmental transformation of toxic metals. *Journal of Occupational Medicine* 8: 575–601.